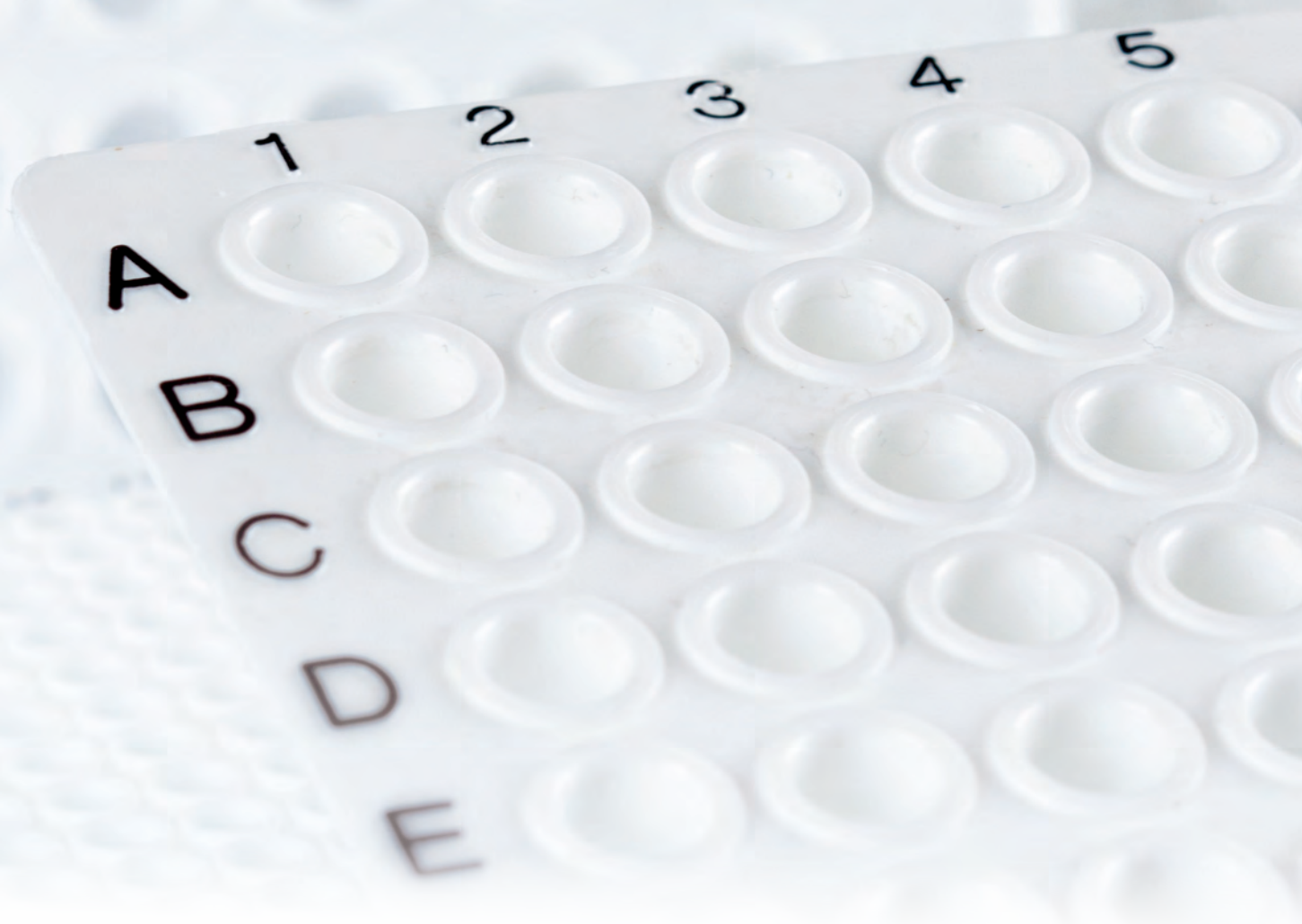


# Совет месяца

Более точные ПЦР в реальном времени с  
белыми ПЦР-пробирками

Улучшенная воспроизводимость - оптимизированная чувствительность –  
снижение взаимных помех



В анализах на основе измерения флуоресценции, таких как ПЦР в реальном времени (qPCR), при использовании небольших объёмов особенно актуальны преимущества улучшенных отражательных свойств белых расходных материалов для ПЦР. Тем не менее, в настоящее время при проведении qPCR чаще применяются прозрачные материалы. Узнайте здесь, как можно легко улучшить результаты qPCR.

## Как использование белых ПЦР-пробирок влияет на воспроизводимость?

Благодаря максимальному отражению белых пробирок флуоресцентный свет «не теряется» в стенках лунок и, соответственно, количество флуоресцентного света, достигающего детектор, более постоянно, чем при использовании прозрачных изделий. В результате достигается снижение рассеяния при обнаружении вторых и третьих экземпляров и при повторе экспериментов.



Прозрачный и белый планшеты ПЦР в сравнении

## Как можно добиться улучшенного соотношения сигнал / фон?

Ввиду в несколько раз более высокого уровня флуоресценции белых расходных материалов для ПЦР и неизменных фоновых эффектов из-за используемого люминофора достигается улучшенное соотношение сигнал / фон в белых пробирках.

## Можно ли избежать взаимных помех («crosstalk») между отдельными лунками?

При использовании прозрачных лунок может происходить детектирование флуоресценции от соседних лунок из-за рассеяния флуоресцентного света. Благодаря полной светонепроницаемости белых расходных материалов детекторы флуоресценции в термоциклере не могут обнаруживать сигналы флуоресценции от соседних лунок.

## Как использование белых ПЦР-пробирок влияет на чувствительность ПЦР?

На этом вопросе мы хотели бы остановиться подробно, на примере сравнительного эксперимента qPCR. Показанный на рис. 1 результат опыта иллюстрирует, что измеренная интенсивность флуоресценции при равных количествах матрицы в белых пробирках значительно выше, чем в прозрачных. Для прозрачных и для белых ПЦР-стрипов на рис. 1 пороговое значение автоматически рассчитывалось в термоциклере независимо друг от друга. Для обнаружения 1000 молекул матрицы в прозрачных пробирках было рассчитано среднее значение  $C_q = 24,87 \pm 0,08$  ( $n = 8$ ), а для белых пробирок - значение  $C_q = 23,40 \pm 0,07$ . Это значит, что в белых пробирках обнаружение происходит раньше. Это является особенным преимуществом, когда в наличии есть лишь небольшие объёмы проб. Таким образом, благодаря использованию белых расходных материалов возможно успешное обнаружение молекул в тех случаях, когда с прозрачными материалами проведение ПЦР нецелесообразно.

## Сравнение уровня флуоресценции в белых и прозрачных лунках

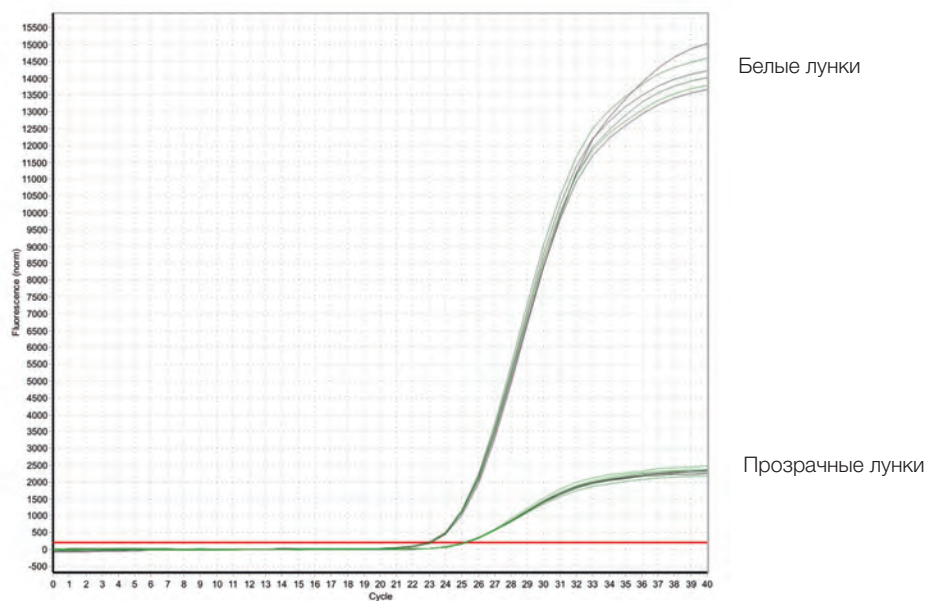


Рис.1 Сравнительный ПЦР-анализ ПЦР-стрипа 72.985.002 (прозрачного) и 72.985.092 (белого) после закрытия высокопрозрачным стрипом крышек 65.989.002. Амплификации подвергался фрагмент 100 bp плазмиды EmGFP (количество матрицы: 1000 молекул) в объеме 20 мкл в термоциклере Eppendorf realplex 4S (n = 8).

## В чём заключается экономический аспект уменьшения объёма при проведении опытов?

Так как с белыми расходными материалами для ПЦР достигается гораздо более высокий уровень флуоресценции, становится возможным значительное сокращение объёма проб и тем самым количества используемых реагентов (ферментов, зондов, праймеров и др.). Тем самым возможна экономия расходов на реагенты.

**Вывод:** применение белых расходных материалов для ПЦР несёт существенные преимущества, которые не следует игнорировать. Не компрометируйте свои результаты только для того, чтобы иметь возможность визуального контроля лунок сбоку или снизу!

